Recenzja

rozprawy doktorskiej na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

lek. med. Piotr Rodak

pt.

"Interakcja między selektywnymi modulatorami receptora estrogenowego (SERM) a szlakiem FasR/FasL w modelu niedokrwienia siatkówki u gryzoni poddanych owariektomii"

Choroby neurodegeneracyjne układu wzrokowego obejmują jaskrę, zwyrodnienie plamki żółtej, retinopatię cukrzycowa, inne retinopatie, dziedziczne zaburzenia genetyczne (takie jak np. zwyrodnienie barwnikowe siatkówki) i inne rzadsze choroby siatkówki. Są one główną przyczyną nieodwracalnej utraty wzroku na całym świecie. Neurodegeneracja jest procesem wieloczynnikowym, wynikającym z interakcji czynników genetycznych, epigenetycznych oraz środowiskowych. W schorzeniach dochodzi do tych postępującej śmierci neuronów oka, znanych jako komórki zwojowe siatkówki (RGC) spowodowanej m.in. przez apoptozę oraz procesy neurozapalne. Częstsze występowanie tych schorzeń obserwuje się wraz zez starzeniem się organizmu. Postępujące z wiekiem zmiany morfologiczne i funkcjonalne prowadzą do osłabienia zdolności utrzymania homeostazy w odpowiedzi na działanie czynników wewnętrznych i zewnętrznych. Czynniki genetyczne, styl życia oraz kumulujące się z wiekiem narażenia na wiele

różnych czynników patogenetycznych powodują współwystępowanie wielorakich, często niepowiązanych ze sobą problemów zdrowotnych. Menopauza jest częścią procesu starzenia się organizmu. Utrata czynności jajników, a w konsekwencji deficyt krążących estrogenów powoduje szereg problemów zdrowotnych, w tym związanych ze zmianami aktywności ośrodkowego układu nerwowego. W literaturze dotyczącej menopauzy i hormonalnej terapii zastępczej coraz częściej pojawiają się doniesienia o neuroprotekcyjnym działaniu estrogenów i ich roli w zapobieganiu i spowolnieniu zaburzeń degeneracyjnych w OUN i narządzie wzroku. Niedobór estrogenów w okresie menopauzy stanowi istotny czynnik ryzyka rozwoju chorób neurodegeneracyjnych siatkówki, w tym neuropatii nerwu wzrokowego oraz retinopatii niedokrwiennych. Neurodegeneracja zależna od zaburzeń hormonalnych prowadzi do śmierci neuronów siatkówki (głównie RGC), które nie mają zdolności spontanicznej regeneracji. Niedobór estradiolu, istotny w procesie starzenia lub wynikający z przyczyn jatrogennych (menopauza po zabiegu owariektomii), może przyspieszać pierwotną lub wtórną apoptozę komórek RGC oraz sprzyjać rozwojowi chorób neurodegeneracyjnych. Ponieważ niedobór estrogenów w okresie okołomenopauzalnym jest powszechnym problemem, a klasyczna hormonalna terapia zastępcza obciążona jest licznymi działaniami niepożądanymi, istnieje potrzeba szeroko zakrojonych badań nad alternatywnymi metodami zapobiegania pogorszeniu widzenia zależnemu od niedoboru estrogenów. Dodatkowo istnieją dowody na interakcje między sygnalizacją estrogenową a szlakiem apoptotycznym z udziałem FasR/FasL, uzasadnione wydaje się być badanie tej zależności w neuronach siatkówki. Modulowanie receptorów estrogenowych przy użyciu SERMs (ang. selective estrogen receptor modulators), będących bezpieczniejszą alternatywą dla klasycznej hormonalnej terapii zastępczej oraz blokowanie szlaku FasR/FasL mogłoby dostarczyć odpowiedzi na temat interakcji między tymi dwoma złożonymi układam sygnalizacyjnymi, a uzyskane wyniki potencjalnie otworzyłyby nowe możliwości terapii celowanych w chorobach naczyniowych siatkówki. Jest to szczególnie istotne, ponieważ częstość procesów neurodegeneracyjnych wzrasta wraz z wiekiem, a ich

zapobieganie może znacząco poprawić jakość życia oraz opóźnić utratę wzroku u osób dotkniętych tymi schorzeniami.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska dotyczy ocena wpływu niedoboru estrogenów indukowanego zabiegiem owariektomii na funkcjonowanie i przeżywalność neuronów siatkówki oraz określenie neuroprotekcyjnego działania modulatorów receptorów estrogenowych i inhibitora szlaku FasR/FasL w modelach niedokrwienia siatkówki. Niedobór estrogenów w okresie okołomenopauzalnym stanowi istotny czynnik ryzyka takich chorób neurodegeneracyjnych jak jaskra, retinopatia niedokrwienna, retinopatia cukrzycowa, czy AMD. Neurodegeneracja zależna od zaburzeń hormonalnych prowadzi do śmierci neuronów siatkówki (głównie RGC), które nie mają zdolności spontanicznej regeneracji. Niedobór estradiolu, istotny w procesie starzenia lub wynikający z przyczyn jatrogennych (menopauza po zabiegu owariektomii), może przyspieszać pierwotną lub wtórną apoptozę komórek RGC oraz sprzyjać rozwojowi chorób neurodegeneracyjnych [28]. Ponieważ niedobór estrogenów w okresie okołomenopauzalnym jest powszechnym problemem, a klasyczna hormonalna terapia zastępcza obciążona jest licznymi działaniami niepożądanymi, istnieje potrzeba szeroko zakrojonych badań nad alternatywnymi metodami zapobiegania pogorszeniu widzenia zależnemu od niedoboru estrogenów. Dodatkowo istnieją dowody na interakcje między sygnalizacją estrogenową a szlakiem apoptotycznym z udziałem FasR/FasL, uzasadnione wydaje się być badanie tej zależności w neuronach siatkówki. Modulowanie receptorów estrogenowych przy użyciu SERMs, będących bezpieczniejszą alternatywą dla klasycznej hormonalnej terapii zastępczej oraz blokowanie szlaku FasR/FasL mogłoby dostarczyć odpowiedzi na temat interakcji między tymi dwoma złożonymi układami sygnalizacyjnymi, a uzyskane wyniki potencjalnie otworzyłyby nowe możliwości terapii celowanych w chorobach naczyniowych siatkówki. Jest to szczególnie istotne, ponieważ częstość procesów neurodegeneracyjnych wzrasta wraz z wiekiem, a ich zapobieganie może znacząco poprawić jakość życia oraz opóźnić utratę wzroku u osób dotkniętych tymi schorzeniami.

Celem głównym pracy było określenie neuroprotekcyjnego działania terapii indywidualnej lub łączonej agonistami receptorów estrogenowych (17β- estradiol lub SERM – raloksyfen) oraz antagonistą szlaku Fas (cząsteczka KP7-6) na neurony siatkówki u gryzoni poddanych owariektomii w modelu niedokrwienia siatkówki.

Cele szczegółowe obejmowały:

Ponieważ praca składała się z dwóch głównych części cele szczegółowe obu części badania były następujące:

Część pierwsza:

- Porównanie wpływu dwu- i siedmiotygodniowego okresu menopauzy (wywołanej zabiegiem owariektomii) na funkcjonowanie i przeżywalność komórek zwojowych siatkówki.
- Ocena wpływu menopauzy wywołanej zabiegiem owariektomii na funkcjonowanie i przeżywalność komórek zwojowych siatkówki w szczurzym modelu ostrej neuropatii nerwu wzrokowego.

Część druga:

- Ocena antyapoptotycznego działania terapii agonistami receptorów estrogenowych (17β-estradiol lub raloksyfen), antagonistą szlaku Fas (cząsteczką KP7-6) oraz terapii łączonych na neurony siatkówki w modelu niedokrwienia ostrego (eksplanty siatkówkowe) oraz przewlekłego (model niedokrwienia/reperfuzji).
- Porównanie antyapoptotycznego efektu terapii w grupie zwierząt poddanych oraz niepoddanych owariektomii.
- Ocena występowania potencjalnych synergistycznych działań molekularnych prowadzonych terapii.

Badania przeprowadzono na zwierzętach doświadczalnych. W pierwszej części badania wykorzystano dwadzieścia siedem ośmiotygodniowych samic szczura szczepu Long Evans,

podzielonych na dwie główne grupy w zależności od czasu pomiędzy zabiegiem owariektomii a eutanazją. W drugiej części badania in vivo badania wykonano u 62 samic myszy C57BL/6, ktore początkowo podzielono na 12 grup eksperymentalnych. Sześć z tych grup poddano obustronnej owariektomii (+OVA) w celu wywołania niedoboru estrogenow, natomiast pozostałe sześć grup stanowiło kontrolę *„sham”*, bez owariektomii (-OVA). Siedem tygodni po zabiegu chirurgicznym, myszy zarówno z grup +OVA, jak i -OVA otrzymały skojarzone leczenie farmakologiczne ogolnoustrojowe oraz doszklistkowe.

Ponieważ opis wszystkich procedur jest długi dlatego celem zapoznania się z nimi odsyłam do oryginalnego egzemplarza pracy doktorskiej.

Wyniki pierwszej części pracy, w której oceniano wpływ chirurgicznie indukowanej menopauzy na funkcję i przeżywalność komórek zwojowych siatkówki w zwierzęcym modelu zmiażdżenia nerwu wzrokowego przy pomocy analizy elektrofizjologicznej i badań histologicznych wykazały, że niedobór estrogenów prowadzi do zaburzeń funkcji siatkówki, utraty interneuronów oraz zwiększonej aktywacji mikrogleju. Dodatkowo wykazano, że menopauza chirurgiczna zwiększa podatność komórek zwojowych siatkówki na uszkodzenie neurodegeneracyjne.

Wyniki drugiej części pracy, które obejmowały ocenę działania neuroprotekcyjnego 17β-estradiolu, raloksyfenu oraz inhibitora szlaku FasR/FasL (KP 7-6) w modelach ostrego i przewlekłego niedokrwienia siatkówki wykazały, że zarówno modulacja receptorów estrogenowych, jak i hamowanie szlaku FasR/FasL wywierają działanie antyapoptotyczne, jednak największą skuteczność neuroprotekcyjną uzyskano przy zastosowaniu terapii skojarzonej. Połączenie raloksyfenu z antagonistą receptora Fas zwiększało przeżywalność komórek zwojowych siatkówki oraz pozwalało na zachowanie ich funkcji zarówno u zwierząt poddanych owariektomii, jak i w grupach kontrolnych.

Uzyskane wyniki wskazują, że niedobór estrogenów nasila podatność neuronów siatkówki na uszkodzenie niedokrwienne, natomiast jednoczesna modulacja sygnalizacji estrogenowej oraz

szlaku apoptotycznego FasR/FasL może stanowić obiecującą strategię terapeutyczną w chorobach neurodegeneracyjnych siatkówki związanych ze starzeniem i menopauzą.

Rozprawa Doktorska powstała w oparciu o finansowanie w ramach grantu NCN PRELUDIUM 2021/41/N/N24/01271.

Wszystkie procedury na zwierzętach zostały zatwierdzone przez Lokalną Komisję ds. Doświadczeń na Zwierzętach i przeprowadzone zgodnie z Dyrektywą Parlamentu Europejskiego (2010/63/UE).

Praca doktorska dotyczy problemu, któremu w chwili obecnej poświęcone jest niewiele doniesień w piśmiennictwie światowym. Poświęcona jest bardzo ważnemu problemowi, ponieważ choroby neurodegeneracyjne siatkówki są główną przyczyną nieodwracalnej utraty wzroku na całym świecie.

We wstępie doktorant omówił szczegółowo strukturę siatkówki, ogólne i siatkówkowe mechanizmy neurodegeneracji, składowe i fizjologie szlaku FasR/FasL oraz jego rolę w procesach neurodegeneracji, estrogeny i menopauzę oraz selektywne modulatory receptora estrogenowego. Ta część pracy świadczy o dobrej znajomości zagadnień związanych z tematyką pracy. Metodyka pracy nie budzi zastrzeżeń. Zastosowano w niej nowoczesne metody badawcze, adekwatne do założonego celu. Należy podkreślić że przeprowadzenie badań doświadczalnych było bardzo praco- i czasochłonne i wymagało dużego zaangażowania doktoranta w ich wykonanie. W chwili obecnej, zgodnie z obowiązującym Prawem o Szkolnictwie Wyższym i Nauce, większość prac doktorskich stanowi zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych. Bardzo rzadko prace doktorskie są to prace doświadczalne, których wykonanie wymaga naprawdę dużego wysiłku organizacyjnego i czasowego, którego obecnie większość doktorantów nie chce się podejmować. Należy jeszcze raz podkreślić, że wybrana tematyka pracy dotyczy bardzo ważnego z punktu widzenia medycyny tematu – szeregu schorzeń, które są główną przyczyną nieodwracalnej utraty wzroku na całym świecie. Metodyka pracy była oparta na najnowszych metodach badawczych. Poza tym cele pracy i metodyka były mocno rozbudowane. Część

pierwsza i druga to dwa oddzielne tematy badawcze i można pokusić się o stwierdzenie, że każda z nich mogła być tematem oddzielnej pracy doktorskiej. Należy również podkreślić, że badania doświadczalne zostały przeprowadzone na dużej liczbie zwierząt co uwiarygadnia otrzymane wyniki.

Metodyka pracy i otrzymane wyniki zostały logicznie i dokładnie przedstawione. W dyskusji doktorant wyczerpująco omówił otrzymane wyniki, z których wynikają konkretne przesłanki terapeutyczne. Wnioski wynikają z otrzymanych wyników.

Praca doktorska lek. med. Piotra Rodaka pt. "Interakcja między selektywnymi modulatorami receptora estrogenowego (SERM) a szlakiem FasR/FasL w modelu niedokrwienia siatkówki u gryzoni poddanych owariektomii" stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. **W mojej ocenie rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668)". W związku z tym chciałbym przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach wniosek o dopuszczenie lek. med. Piotra Rodaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Równocześnie chciałbym złożyć wniosek o wyróżnienie niniejsze pracy doktorskiej ponieważ spełnia ona następujące warunki:

1. Praca przedstawia wysoką wartość merytoryczną - dotyczy tematu, któremu w chwili obecnej poświęcone jest niewiele doniesień w piśmiennictwie światowym. Poświęcona jest bardzo ważnemu problemowi, ponieważ choroby neurodegeneracyjne siatkówki są główną przyczyną nieodwracalnej utraty wzroku na całym świecie.
2. Zastosowano w niej nowoczesne metody badawcze, adekwatne do założonego celu.
3. Przeprowadzenie badań doświadczalnych było bardzo praco- i czasochłonne i wymagało dużego zaangażowania doktoranta w ich wykonanie.

4. Wyniki przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej zostały częściowo opublikowane w artykule pt. „Surgical Menopause Impairs Retinal Conductivity and Worsens Prognosis in an Acute Model of Rat Optic Neuropathy" w czasopiśmie Cells MDPI (Cells . 2022 Sep 29;11(19):3062. doi: 10.3390/cells11193062) o IF 6,0.

Prof. dr n. med. Marek E. Prost

Marek Prost
Podpis Kwalifikowany

Dokument
podpisany przez
Marek Prost
Data: 2026.07.28
19:02:45 CEST

Klinika Okulistyczna

Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie